

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. H. BREDT
und dem Institut d'Histologie de l'Université de Genève
Direktor: Professor Dr. CH. ROUILLER

Elektronenmikroskopische Morphologie der Sekretion des Taubenkropfes unter dem Einfluß von Prolactin

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Wolf G. Forssmann

aus Berlin

Mainz 1964

Referent: Priv.-Doz. Dr. R. BÄSSLER

Korreferent: Prof. Dr. H. BREDT

Dekan: Prof. Dr. Dr. WAGNER

Frankfurter Zeitschrift für Pathologie 74, 512—533 (1965)

Verlag von J. F. Bergmann, München

(auf)

Meiner lieben Frau und meinen lieben Eltern

Inhalt

A. Einleitung	512
B. Untersuchungsgut und Methoden	513
1. Versuchstiere	513
2. Versuche	513
3. Lichtmikroskopische Methoden	513
4. Elektronenmikroskopische Methoden	513
C. Ergebnisse der Untersuchungen	513
1. Morphologie des ruhenden Taubenkropfes	513
a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde	513
b) Elektronenoptische Befunde	514
Zellstruktur des Stratum germinativum	514
Zellstruktur des Stratum spinosum	517
Zellstruktur der oberflächlichen Schicht	518
Der Ablösungsvorgang der oberflächlichen Epithelzellen am ruhenden Taubenkropf	519
Fettbildung im ruhenden Kropfepithel	519
Vascularisation und subepitheliales Gewebe	520
2. Morphologie des Taubenkropfes unter dem Einfluß von Prolactin	520
a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde	520
b) Elektronenoptische Befunde	522
Frühveränderungen nach Prolactingaben	522
Die Fettbildung	523
Die Sekretabgabe	527
D. Diskussion	528
E. Zusammenfassung	531

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Mainz (Direktor: Prof. Dr. H. BREDT) und dem
Institut d'Histologie de l'Université de Genève (Direktor: Prof. Dr. CH. ROUILLER)

Elektronenmikroskopische Morphologie der Sekretion des Taubenkropfes unter dem Einfluß von Prolactin*

Von

WOLF G. FORSSMANN

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Januar 1965)

* Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft unter Leitung von Priv.-Doz. Dr. R. BÄSSLER, Mainz, durchgeführt.
Für technische Hilfe bin ich Herrn M. BAUMANN, Genf, dankbar.



A. Einleitung

Der Kropf dient den meisten Vogelarten zur Speicherung und Vorverdauung ihrer Nahrung. Bei der Familie der *Columbiden* fällt ihm darüber hinaus die besondere Aufgabe zu, während der Brutpflege ein milchiges, fettreiches Sekret zu bilden, das der Ernährung der Jungen dient.

Diese Funktion des Taubenkropfes ist seit PEYER (1685) bekannt. HUNTER (1786) hat diesen Vorgang genauer untersucht und dabei dem abgesonderten Sekret den auch noch heute üblichen Namen „Kropfmilch“ gegeben. Im vorigen Jahrhundert setzten sich zahlreiche Autoren (NEERGAARD 1806, WAGNER 1843, LEYDIG 1857, HASSE 1865, CHARBONNEL-SALLE und PHISALIX 1886, TEICHMANN 1889) mit dem Problem dieser Sekretionsart auseinander. Erst LITWER (1926) konnte in einer eingehenden histologischen Studie den Nachweis des holokrinen Sekretionsmodus im Sinne RANVIERS (1887) führen.

Mit der Entdeckung der Prolactinwirkung auf die Milchsekretion der Säuger (STRICKER und GRUETER 1928) gewann die Kropfmilchbereitung bei der Taube erneutes Interesse, da durch dieses Hypophysenvorderlappenhormon die Absonderung von Kropfmilch induziert werden kann. Es ist damit möglich, die Prolactinwirkung nachzuweisen. Auf dieser Grundlage arbeiteten RIDDLE und BRAUCHER (1931) sowie RIDDLE, BATES und DYKSHORN (1933) eine Methode zum quantitativen Prolactinnachweis, den sogenannten „Taubenkropftest“, aus. Dabei dient die Gewichtszunahme des Taubenkropfes nach intramuskulärer Prolactininjektion als Maßstab, und noch heute gilt der Taubenkropftest als beste Methode zur Bestimmung von Prolactineinheiten (JUNKMANN 1957).

Kürzlich hat WEBER (1962) in einer histologischen und cytologischen Studie die Sekretion im Taubenkropf erneut untersucht. WEBER vergleicht darin Ruhephase, Brutpflege, experimentelle Sekretionsauslösung und sieht zwischen der natürlichen und experimentell erzeugten Sekretion keine morphologischen Unterschiede. Aus seinen Ergebnissen leitet er über das spezielle Teilproblem der Taubenkropfssekretion hinausgehend Vorstellungen über Proliferation und Sekretbereitung und über die dabei zu Tage tretenden Wechselbeziehungen zwischen Kern und Cytoplasma ab.

Die bisherigen lichtmikroskopischen Beobachtungen haben teilweise zu verschiedenen Auffassungen der Zell- und Drüsenfunktion geführt: LITWER (1926) hatte zum Beispiel während der Proliferation eine Erweiterung des engmaschigen Golgi-Apparates und eine Anlagerung der Mitochondrien an diesen beobachtet. Dagegen wird bei WEBER (1962) über eine Funktionsbeteiligung des Golgi-Apparates an der Fettbildung nicht gesprochen. Die Ablösung und Auflockerung des Zellverbandes während der Sekretionsphase wurde bisher wenig beachtet.

Es steht ferner die Frage offen, ob das spezialisierte Taubenkropfepithel als eine holokrine Drüse angesehen werden darf. Nach BARGMANN (1958) und PALAY (1958) steht bei der Sekretbildung in Drüsenzellen zur Diskussion, in welcher Weise der Golgi-Apparat, das Ergastoplasma und die Mitochondrien an diesen Vorgängen beteiligt sind. PALAY findet in holokrinen Drüsenzellen eine Entstehung von Sekrettröpfchen im Bereich des Golgi-Apparates. Es wird daher zu prüfen sein, ob sich diese Verhältnisse auch auf das Epithel der Kropfmilchdrüse übertragen lassen.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung am sezernierenden Taubenkropf erschien deshalb als Ergänzung und Erweiterung der bekannten lichtmikroskopischen Darstellungen reizvoll, da über eine Strukturanalyse hinausgreifend, Probleme der Stoffbildung und des Stofftransportes an einem weitgehend gleichartigen Epithelgewebe modellartig erfaßt werden konnten.

B. Untersuchungsgut und Methoden

Es wurden 11 Brieftauben beiderlei Geschlechts untersucht. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 210 und 380 g. Die Tiere hatten ein Alter von 4—8 Monaten. Vor Durchführung der Versuche wurden die Tiere 14 Tage isoliert gehalten.

Die Tauben erhielten 25 iE Prolactin, das in 1 ml Aqua bidest. gelöst wurde, subcutan in die Kropfgegend injiziert. Nach 2½, 5, 10, 20 und 42 Std wurden Tiere durch Dekapitation getötet. Außerdem wurden bei zwei Tauben, die 40 Std nach der ersten Injektion eine weitere Dosis von 25 iE bekommen hatten, Gewebesteile nach 90 Std entnommen.

Nach Freilegung und Eröffnen der Taubenkröpfe, die zumeist Körnerfutter enthielten, wurden die Gewebesteile aus der lateralen sowie der medialen Kropfwand entnommen. Fixierung in Bouinscher Lösung, Alkohol und neutralen Formalin. Einbettung in Paraffin, Schnittdicke 6—8 μ . Färbungen in Hämatoxylin-Eosin, PAS, Bestches Carmin und Sudan III.

Sofort nach der Freilegung der Taubenkröpfe wurden Gewebesteile des Kropfes in einem Tropfen Fixationslösung zerkleinert, wobei die Partikel für die Einbettung weniger als 1 mm dick waren. Diese wurden in 1%iger Osmiumtetroxydlösung in Veronalacetat-Puffer bei pH 7,4 etwa 2 Std bei 4° C fixiert (PALADE 1952). Nach Entwässerung in aufsteigender Acetonreihe wurden sie in Vestopal „W“ eingebettet (RYTER und KELLENBERGER 1958). Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom hergestellt und mit Bleicacodylat (KARNOVSKY 1961), mit Bleicitrat (REYNOLDS 1963) oder mit Uranylacetat (HUXLEY und ZUBAY 1961) kontrastiert. Die elektronenoptischen Aufnahmen wurden am Zeiss EM 9 Elektronenmikroskop gemacht.

C. Ergebnisse der Untersuchungen

1. Morphologie des ruhenden Taubenkropfes

a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde:

Der Taubenkropf besteht aus zwei paarig angelegten Aussackungen der Pars cervicalis des Ösophagus. Der mediale Teil des Kropfes hat die gleiche makroskopische und lichtmikroskopische Struktur wie der angrenzende Ösophagus. Die beiden Kropfsäcke sind aber schon mit bloßem Auge deutlich durch die starke Vascularisation der Submucosa vom Ösophagus unterscheidbar. Dazu besitzt das Kropfepithel eine ausgeprägte Faltenbildung, die besonders in einem rundlichen Areal der vorderen und seitlichen Wand zu sehen ist. In diesem Gebiet bildet die Taube während der Brutpflege die sogenannte Kropfmilch.

Lichtmikroskopisch findet man in der Ruhephase des Kropfes ein Epithel, das im Aufbau dem mehrschichtigen, unverhornten Plattenepithel des Ösophagus gleicht: es besitzt eine Basalzellschicht von etwa drei Zellagen, ein Stratum spinosum von fünf bis acht Zellagen und eine Oberflächenschicht von abgeflachten Epithelien (Abb. 1). Im Ösophagus und im Kropfmittelteil ist das Epithel etwas niedriger, da alle Zellschichten dünner sind. Auch im lichtmikroskopischen Bild hebt sich die Faltenbildung des sogenannten „Drüsenteils“ gegenüber dem glatten Ösophagus-epithel deutlich ab, so daß man die Übergangszone mühelos erkennen kann.

Die weit in die Tunica propria reichenden und verzweigten Epithelzapfen des drüsigen Kropfteils und die schmalen Papillen mit ihren Capillaren sind charakteristisch. Die engsten Papillen können manchmal gerade noch eine Capillare fassen. Da diese Capillaren bei weit in das Epithel

reichenden Papillen selten von kollagenem Bindegewebe der Tunica propria umgeben sind, erscheinen sie als intraepitheliale Capillaren. So deutete LITWER (1926) diese kleinen Blutgefäße bereits als intraepithelial.

b) *Elektronenoptische Befunde:*

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung ist eine gleichartige Schichtenfolge der Zelltypen wie im Lichtmikroskop zu beobachten. Ein Strukturwandel wird vor allem bei einem Vergleich des Stratum basale mit dem Stratum spinosum deutlich. Aber auch in den oberflächlichen Zellagen sind morphologische Unterschiede der Struktur in der Anordnung von Zellorganellen vorhanden.

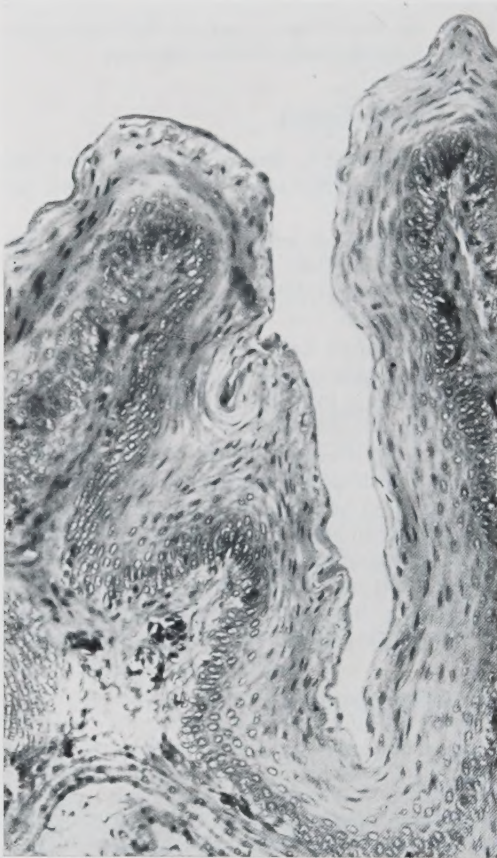


Abb. 1. Ausschnitt aus dem ruhenden Kropfepithel: Die Schleimhautfalten im Drüsenteil des Taubenkröpfes besitzen ein ähnliches, unverhorntes Plattenepithel wie der angrenzende Oesophagus; zusätzlich findet man hier die starke Faltenbildung und eine größere Schichtdicke des Epithels. Formalin, Paraffin, Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 88,2 mal

an den Übergängen zum Stratum spinosum liegen, haben eine Oberfläche, die regelmäßig von diesen Mikrovilli in einem Abstand von etwa 100–200 μ übersät ist. Dabei verzahnen sich die Zellen an allen Stellen gegenseitig. Zwischen den Mikrovilli der Zelloberflächen breitet sich ein verzweigter, elektronenoptisch leerer Raum aus, der etwa 150–200 μ breit ist.

Desmosomen besitzt die Basalzelle nicht. Es kommen jedoch stellenweise Membranverdichtungen vor, die man an eng aneinandergelagerten Cytomembranen je zweier benachbarter Zellen findet. Diese Verdichtungen könnten als Vorstufen der *Desmosomen* angesehen werden.

Das *Hyaloplasma* der basalen Epithelzelle erscheint im Elektronenmikroskop transparent. PORTER (1961) spricht von „Grundsubstanz der Zelle“. In dieser Cytoplasmagrundsubstanz

Feinstruktur des Stratum germinativum

Im Stratum germinativum sind die Epithelzellen polygonal gebaut und messen zwischen 4–7 μ in ihrem größten Durchmesser (Abb. 2). Einige dieser Zellen sind schmal oder besitzen Fortsätze, die die Zwischenräume im basalen Epithelteil ausfüllen. So findet sich nur ein kleiner extracellulärer Raum zwischen den dicht gelagerten Basalzellen.

Die *Cytomembran*, welche den Zelleib begrenzt, ist eine feine, etwa 50 Å dicke Membran. Diese hat einen unregelmäßigen Verlauf: nach der Seite zur Tunica propria hin findet man verschieden geformte und breite Mikrovilli. Ferner sind glatte Stellen an der Oberfläche dieser Zellseite vorhanden. Das Oberflächenrelief ist dort von einer Basalmembran bedeckt, die sich der Cytomembran dicht anschmiegt und das Epithel von der Tunica propria trennt (Abb. 3). An den Zellen, die direkt an Bluteapillaren liegen, hat die Zellmembran häufiger einen bemerkenswerten glatten Verlauf. Invaginationen der Cytomembran in Größe von Pinocytosebläschen sind nur selten vorhanden.

Wo sich die Basalzellen gegenseitig berühren, hat die Zellmembran zahlreiche *Mikrovilli* und eine ziemlich einheitliche Form. Diese kleinen Fortsätze der Zellen von 200 μ Länge und 20–30 μ Dicke geben der Zelloberfläche ein stacheliges Aussehen. Besonders die Basalzellen, welche

werden als Cytoorganellen Mitochondrien, Ribosomen, Ergastoplasmastrukturen, Golgi-Komplexe, Centriolkörper und als Metaplasma Tonofibrillen beobachtet.

Die *Mitochondrien* haben vorwiegend einen elliptischen Bau: sie sind 200—400 $m\mu$ breit und 450—600 $m\mu$ lang. Längere Mitochondrien von über 1000 $m\mu$ sind manchmal angetroffen worden.

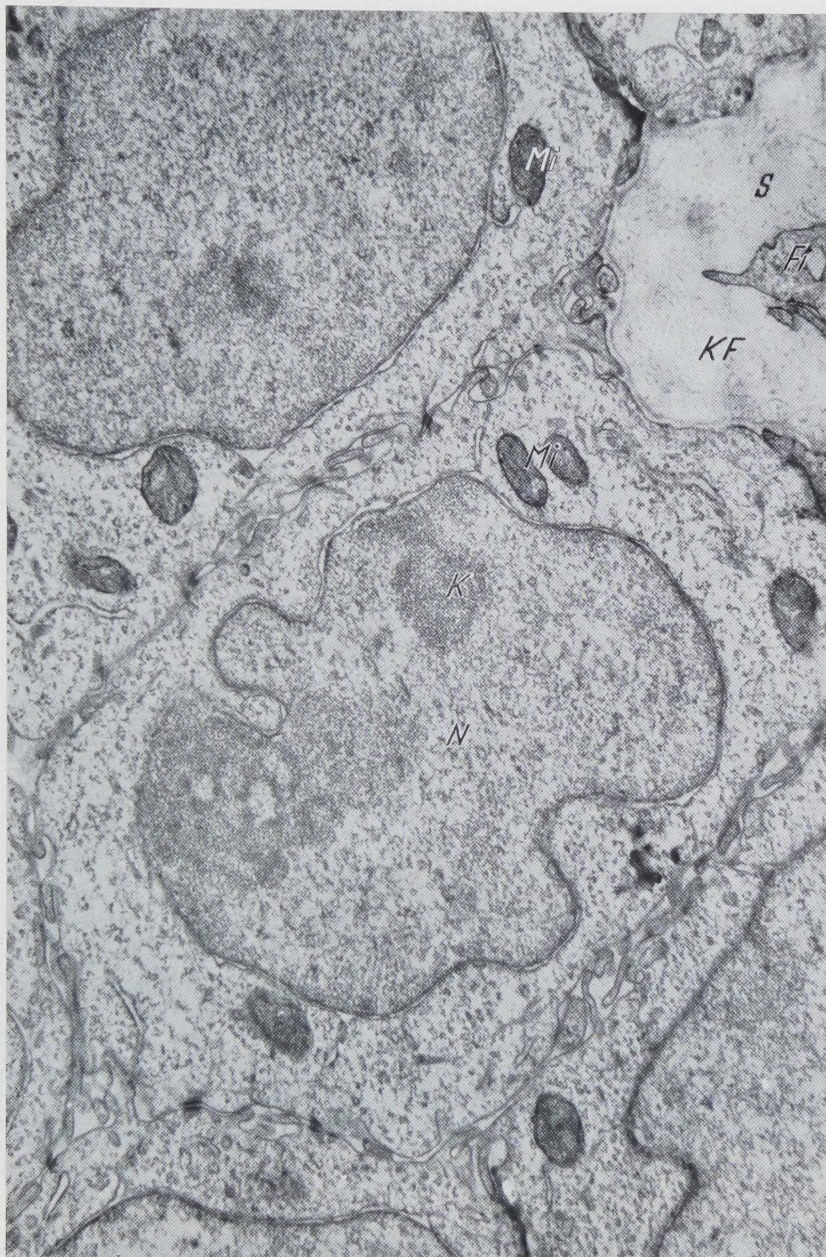


Abb. 2. Ausschnitt aus dem Stratum basale des unbehandelten Drüsenteils. Die Submucosa (S) ist vom Epithel durch eine Basalmembran getrennt und enthält kollagene Fibrillen (KF); ein Fortsatz eines Fibrocyten ist im oberen Bildrand sichtbar (Fi). Im Zellkern (N) der Basalzellen sind Karyosomenverdichtungen (K) zu erkennen. Das Cytoplasma enthält wenige Mitochondrien (Mi) und freie Ribosomen. Vergr. 20000mal

Dabei fiel immer eine Segmentierung durch Einschnürung in der Mitte dieser Mitochondrien auf. Ihre Ultrastruktur entspricht der von PALADE (1952) erstmals beschriebenen Form. Die Cristae mitochondriales sind senkrecht zur Längsachse stehende, echte flache Leisten, die aus der inneren Mitochondrienmembran hervorgehen.



Abb. 3. Capillare mit Erythrocyt (*E*) in einer schmalen Papille. Das Endothelrohr (*En*) liegt in der Submucosa (*S*). Zellkerne der Endothelzelle (*N₁*) und Basalzelle (*N₂*). Vergr. 20000mal

Die von der äußeren glatten und der inneren Mitochondrienmembran eingeschlossene Phase ist wie die der Mitochondrienmatrix elektronenoptisch leer und enthält keine Einschlüsse. Die Mitochondrien sind verhältnismäßig häufig, so daß im Querschnitt einer in der Mitte getroffenen Zelle meist zwischen zehn und zwanzig Mitochondrien zu sehen sind.

Das Cytoplasma der Basalzellen weist gleich dicht verstreute Gruppen oder einzelne freie *Ribosomen* auf. Diese Palade-Granula (PALADE 1955) sind kleine dunkle Körnchen von 50–80 Å. Sie sind in spiraligen, gereihten, rosettenförmigen oder zirkulären Haufen von drei bis sieben Ribosomen zu finden. Vereinzelte Ribosomen können solchen Gruppen angehören, die im Schnitt nur teilweise erfaßt sind. In ihrer Größe und Form unterscheiden sich die Ribosomen nicht von den Karyosomen (Abb. 2, 3).

Das *Ergastoplasma* oder granuläre endoplasmatische Reticulum (PORTER 1954, PALADE 1956) ist in den Basalzellen so spärlich ausgebildet, daß man in einem Zellquerschnitt nur ein bis drei schmale Spalten von 200–600 Å Breite antrifft. Die Ergastoplasma-membranen messen etwa 50 bis 80 Å. Sie tragen die perlschnurartig aufgereihten, gebundenen Ribosomen (Abb. 2).

Der *Golgi-Apparat* (BEAMS, VAN BREEMEN, NEWFANG und EVANS 1952, PALAY und PALADE 1955, HAGUENAU und BERNHARD 1955, DALTON und FELIX 1956) ist ein Komplex von tubulären und vesiculären Hohlräumen. Die agranuläre Membran hat etwa gleiche Dicke wie die des Ergastoplasmas. Als Elemente des Golgi-Apparates wurden von HAGUENAU und BERNHARD (1955) sowie DALTON und FELIX (1956) dagegen jedoch drei Komponenten angegeben: eine wäßrige Phase in vacuoligen Gebilden, Lamellensysteme von Membranen und 400 Å große, angelagerte Granula. Bei den untersuchten Zellen konnte nur die wäßrige Phase in den Tubuli und Vesikeln gesehen werden.

Die Tubuli sind meistens kollabiert, selten aufgebläht und liegen parallel nebeneinander. Anscheinend ungeordnet liegen in der Verlängerung der Tubuli die 300–500 Å großen Vesikel. Der gesamte Komplex des Golgi-Apparates ist verhältnismäßig klein. Meist findet man in den Zellen nur eine kleine Gruppe von drei Tubuli und einigen Vesikeln.

Außer den bisher beschriebenen Cytoplasmaorganellen fand ich in mehreren Fällen *Centriolen*, die aus einer zylindrisch geformten Gruppe von neun dünnen Tubuli gebaut sind. Diese Strukturen entsprechen der von DE HARVEN und BERNHARD (1956), STOCKENUS (1957) sowie von BERNHARD und DE HARVEN (1956) für verschiedene andere tierische Zellen beschriebenen Form.

Die *Tonofibrillen* sind in den Basalzellen nur in kleinen Bündeln vorhanden und durchsetzen teilweise in Straßen den Cytoplasmaraum. In die Tonofibrillenbündel sind keine Ribosomen eingelagert, erst in den Zellen des Stratum spinosum, wenn die Tonofibrillen ein Netzwerk bilden, liegen Ribosomen zwischen den Tonofibrillen. Es sind kleinste Fäserchen von 20–25 Å Dicke. Die Tonofibrillen nehmen in den Basalzellen einen so geringen Raum ein, daß sie in der Hälfte der beobachteten Zellen gar nicht in der Schnittebene angetroffen wurden.

Normale Basalzellen besitzen einen rundlichen und leicht gelappten *Zellkern*, der meist zentral in der Zelle gelagert ist (Abb. 2). Die doppelte Kernmembran hat verschieden dicht angeordnete Kernporen (AFZELIUS 1955, HAGUENAU und BERNHARD 1955) und weist selten zisternenartige Erweiterungen auf. Die Struktur der Kernmembran entspricht im übrigen der bekannter tierischer Zellen (CALLAN und TOMLIN 1950, BRETTSCHEIDER 1952). Die Zisternen des Plasmazwischenspaltes (WATSON 1955) werden besonders durch die Undulationen der äußeren, cytoplasmatischen Karyomembran gebildet.

Kommunikationen des endoplasmatischen Reticulum mit dem Plasmazwischenspalt, wie sie WATSON (1955) und PORTER (1961) angegeben haben, sind in mehreren Zellen beobachtet worden. An der Stelle der Kernporen erscheint die Kernmembran gelegentlich unterbrochen oder aufgelöst, indem die äußere und innere Kernmembran miteinander verschmelzen. So entsteht stellenweise der Eindruck, daß eine Kontinuität zwischen Karyoplasma und Cytoplasma vorhanden ist.

Das *Karyoplasma* der Basalzellen hat eine elektronenoptisch leere Grundsubstanz, in der ein filamentöses Netzwerk und verschieden dicht Karyosomen liegen (Abb. 2 u. 3). Die Karyosomen sind in den einzelnen Zellkernen verschieden gelagert: in vielen Basalzellen liegen sie in einem schmalen Saum an der Kernmembran verdichtet, oft findet man aber auch mittel- und randständige Körper von Karyosomenanhäufungen, die Übergangsstrukturen zu Formen darstellen, welche als Nucleolus bezeichnet werden könnten.

Zellstruktur des Stratum spinosum

Der Übergang von basalen Zellen in Zellen des Stratum spinosum führt kontinuierlich zu Formen, die besonders durch die große Zahl an *Desmosomen* (Abb. 4) ausgezeichnet sind. VOGEL (1957 und 1958) zeigte elektronenoptische Darstellungen verschiedener Desmosomen einiger Epithelarten, die im wesentlichen den Desmosomen des Taubenkropfepithels entsprechen.

Um die Membranverdichtungen ist nach dem Zellinnern ein deutlich abgegrenzter, dunkler Hof zu sehen, in den die Tonofibrillen einstrahlen. Zwischen den Zellen ist an den Desmosomen der 400–500 Å breite Interzellularspalt von einer zartgrau getönten Zwischensubstanz ausgefüllt, in der oft zwei feine Lamellen von 70 Å beobachtet wurden. Die Desmosomen sind häufig an den zottigen Protrusionen der mittleren Zellen zu sehen, welche hier eine eng verzahnte und sich durchdringende Haftzone bilden.

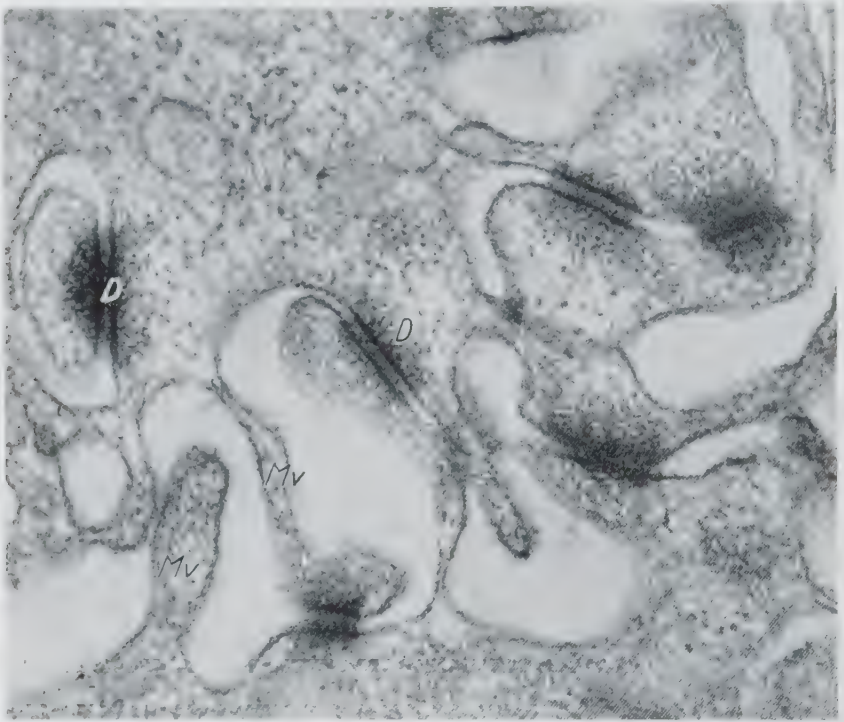


Abb. 4. Zellgrenzen der mittleren Zellschichten im unbehandelten Taubenkropfepithel. Desmosomen (D) und Mikrovilli (Mv) bewirken die Zellverbindungen. Vergr. 45000mal

Die *Tonofibrillen* nehmen im Gegensatz zum Stratum basale in dieser Zellschicht einen großen Teil des cytoplasmatischen Raumes ein. Die Tonofibrillen sind nicht mehr eng gebündelt wie in den Basalzellen, sondern formen ein lockeres Maschenwerk der feinen Fäserchen, die sich ineinander verschlingen und verzweigen. In den Maschen liegen einige Ribosomen. Nach den Desmosomen hin findet man stets eine Bündelung der Tonofibrillen, die sich dann in dem grauen Desmosomenhof zu verlieren scheinen.

Unterschiede der Zellen des Stratum basale zu denen des Stratum spinosum sind sonst weniger markant. Die Form der Zellen wird nach dem Kropflumen hin flacher. Mitochondrien sind seltener und haben eine graue Matrix. Auch die Ribosomen sind in diesen Zellen weniger zu sehen. Es bleibt zu erwähnen, daß die Zellkerne ab und zu Nucleoli mit ein bis zwei runden, hellen Innkörpern haben. Außerdem fallen in den distalen Zellen dieser Schicht die ersten Ablösungserscheinungen ins Auge. Vereinzelt findet man Fettkugeln eingelagert. WEBER (1962) gab an, daß auch im ruhenden Taubenkropf in geringem Maße Fett gebildet wird.

Zellstruktur der oberflächlichen Schicht

Bei den Untersuchungen der distal gelegenen Zellen fällt auf, daß sie immer flacher werden je näher sie dem Kropflumen liegen. Schließlich sieht man im elektronenmikroskopischen Bild nur noch schmale Cytoplasmastreifen, die einige Formelemente aufweisen, die an die Zellen der proximalen Schichten des Epithels erinnern. Die Zellen messen etwa $0,5 \mu$ in der Breite und

ihr Durchmesser hat meist über $15\ \mu$. Das Epithel in dieser Schicht weist Veränderungen auf, deren Ursache WEBER (1962) mit der Beanspruchung bei der Nahrungsspeicherung in Zusammenhang bringt. Das teilweise aufgerissene Cytoplasma zeigt eine unregelmäßige Granulierung. Die Cytoorganellen, wie Mitochondrien und Zellkern weisen häufig verschwommene Konturen auf; am besten sind die Mikrovilli, die Cytoplasmamembran und die Desmosomen erhalten. Auch der Zellkern hat eine flache, elliptische Form angenommen.

Der Ablösungsvorgang der oberflächlichen Epithelzellen am ruhenden Taubenkropf

In der Regel liegen bis zehn Zellagen an der Epitheloberfläche, die sich in verschiedenen Phasen der Desquamation befinden (Abb. 5). Bei diesem Vorgang bleiben die Zellgrenzen erhalten.

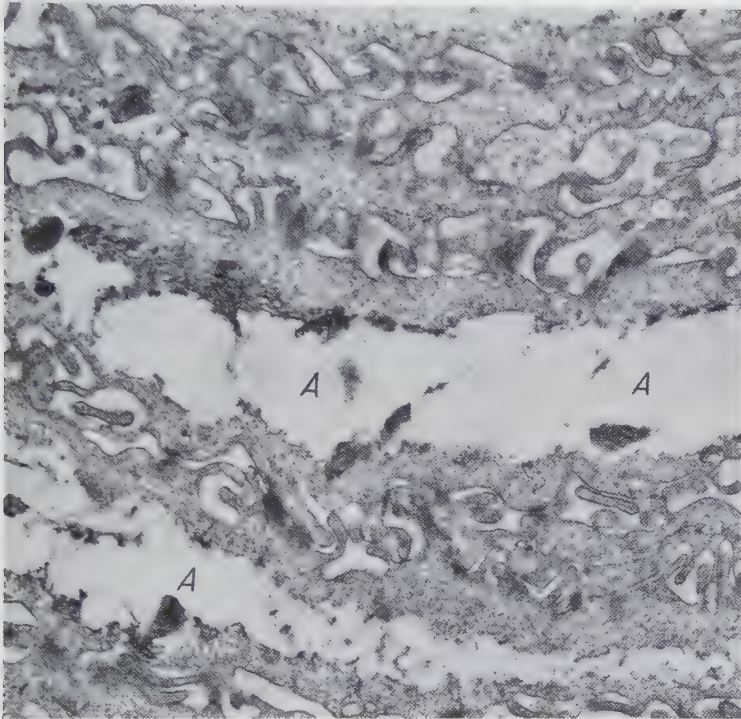


Abb. 5. Äußere Schichten des ruhenden Kropfepithels mit Zeichen der Cytolyse vor der Abschilferung. Aufreißen des Zelleibes (A). Die Zellgrenzen sind gut erhalten. Vergr. 20000mal

Im Zellinnern bilden sich Cytoplasmaspalten, die von Tonofibrillen begrenzt werden. In den flachen, äußersten Zellen wird deutlich, wie diese Spalträume durch die Mitte der Zellen verlaufen und schließlich auch Zellkerne und Mitochondrien erfassen, nicht aber die Zellmembran, die zumeist erhalten bleibt. Die Zellen besitzen dabei nur noch Zellkerne und Mitochondrien in einem alteriertem Zustand sowie einige Ribosomen und ausgefranzte Tonofibrillen. Dagegen sind aber die Zellgrenzmembranen und die Interzellularbrücken gut erhalten. Die Zellränder sind etwas stärker aneinandergedrückt, so daß die Zwischenzellräume manchmal verschwinden.

Daraus geht hervor, daß der normale Ablösungsvorgang nicht durch eine Auflösung der Zellverbindungen an den natürlichen Zellgrenzen vor sich geht, sondern durch eine Cytolyse, wobei die Zellen in ihrer Mitte aufreißen. Die abgestoßenen Zellteile sind mithin durch ihre Zellmembran, durch aneinanderliegende Zellhälften zweier Zellen oder auch durch Zellgruppen, die außen eine zerteilte Zelle besitzen, erkennbar (Abb. 5).

Fetteinschlüsse im ruhenden Kropfepithel

Von den bisherigen Untersuchern des Taubenkropfes geht lediglich WEBER (1962) auf die Frage ein, ob auch im ruhenden Kropfepithel eine Fettbildung stattfindet. In den eigenen

Studien konnten nur in ganz wenigen Zellen des Kropfepithels Fetteinschlüsse gefunden werden. Es handelt sich dabei um einzelne kleine Fettkügelchen, die nur in Zellen des zur Drüsenfunktion fähigen Teils der lateralen Kropfwand hervortraten.

Vascularisation und subepitheliales Gewebe

Die Blutgefäße, welche in der Tunica propria dicht am Epithel verlaufen oder in die Schleimhautfalten vordringen, sind ausnahmslos Capillaren. Diese haben ein einschichtiges, porenloses Endothelrohr, das von einer Basalmembran umgeben ist (Abb. 4). Stellenweise sind die Capillaren von Pericyten umhüllt, jedoch kommen auch häufig Capillaren vor, die streckenweise keine Pericyten besitzen.

Diese Art von Capillaren habe ich bei Untersuchungen im Endoneurium des Ganglion cervicale superius der Ratte gesehen und als „nackte Capillaren“ bezeichnet (FORSSMANN 1964).

Die Basalzellen des Epithels sind von der Tunica propria durch eine *Basalmembran* getrennt. Zwischen Basalmembran und Cytogrenzmembran der Keimzellschicht besteht ein gleichmäßig schmaler, spaltförmiger Raum von 300 Å Breite, der elektronenoptisch leer erscheint. Die Basalmembran selbst ist etwa 200 Å dick, und man kann bei höherer Auflösung nachweisen, daß sie aus feinsten Filamentstrukturen zusammengesetzt ist.

Die *Tunica propria* enthält in ihrer elektronenoptisch leer erscheinenden Grundsubstanz zahlreiche, in lockeren Bündeln gelagerte Kollagenfasern, die wellenförmig und parallel verlaufen. Daneben liegen einige Fibrocyten zwischen den kollagenen Faserbündeln (Abb. 2). Auch die schmalen Papillen zeigen gebündelte und einzelne Kollagenfasern sowie die leere Grundsubstanz zwischen Basalzellen und Capillaren.

Auf die Tunica propria folgt die *Tunica muscularis*, die eine innere Längsschicht und eine äußere Ringschicht von glatter Muskulatur besitzt.

Als äußerste, die Kropfwand bildende Gewebsschicht schließt sich die *Adventitia* an, welche eine lockere der Tunica propria vergleichbare Bindegewebsstruktur besitzt.

2. Morphologie des Taubenkropfes unter dem Einfluß von Prolactin

a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde

Etwa 40 Std nach subcutaner Prolactininjektion von 25 iE weist die Kropfwand eine auffällig starke Vascularisation auf. Die Venen sind ektatisch, leicht geschlängelt, die gesamte Kropfwand spiegelnd und straff. Beim Eröffnen des Kropfes und nach Entfernung des Futters findet man eine gelbliche, käsige Masse auf wulstig verdickten Epithelfalten. Von dieser Epithelverdickung und Sekretauflagerung ist nur der beschriebene, rundliche, im Durchmesser 3—4 cm große Bezirk der *lateralen* Ausstülpungen des Kropfsackes betroffen.

Nach 90 Std und zweimaliger Prolactingabe von 25 iE ist die Sekretion weiter fortgeschritten, so daß an manchen Stellen die Schicht des käsigen Sekretes über 5 mm Breite erreicht. Teilweise läßt sich das sezernierte Material abheben. Das Epithel erscheint von livider Farbe und ist ödematös aufgequollen.

Im lichtmikroskopischen Präparat kann man nach 10 Std schon in vielen Epithelzellen kleine Fettkügelchen beobachten. Nach 20 Std besitzen sämtliche Zellen des Stratum basale und Stratum spinosum mehrere Fetttröpfchen in ihrem Cytoplasma.

In den äußeren, flachen Zellen des Epithels werden keine Fetteinschlüsse gebildet. Unter anhaltender Prolactinstimulierung zeigt sich in den verfetteten Epithelien eine zahlenmäßige Verminderung und eine gleichzeitige Ver-

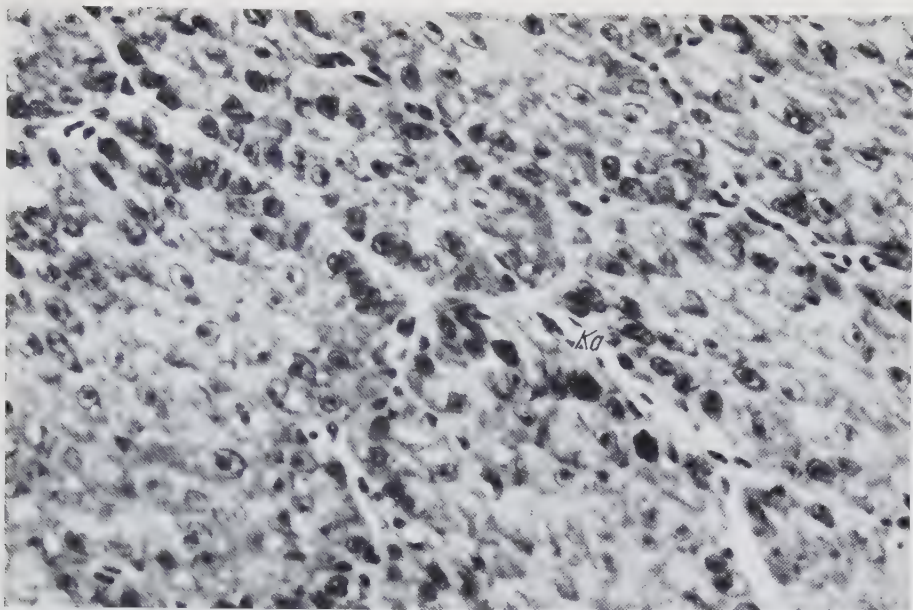


Abb. 6. Bei starker Vergrößerung erkennt man deutlich, daß sämtliche Zellen Fettbestandteile, meist nur einen Fetttropfen, enthalten. Die Capillaren (Ka) verlaufen in einem schmalen Spaltraum. 90 Std nach Prolactinbehandlung. Paraffin, Formalin, Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 560mal

größerung der Fettkügelchen. Es ist zu vermuten, daß diese größeren Sekretropfen durch ein Zusammenfließen der intracytoplasmatischen Fettsubstanzen entstehen (Abb. 6).

Wie man an den zahlreichen Mitosen der Epithelzellkerne sehen kann, setzt die Proliferation des Epithels im Drüsenteil schon wenige Stunden nach Prolactingabe ein. Nach etwa 40 Std ist das Epithel vielschichtig und beträchtlich verbreitert. Die



Abb. 7. Übersichtsbild aus dem sezernierenden Drüsenteil 90 Std nach Prolactingaben. Die Lücken zwischen den Epithelfalten sind durch Proliferation von Zellen ausgefüllt, die Papillen sind verschmälert. Alle Zellen enthalten Fett-einschlüsse. Teilweise Beginn der Sekretion (S). Formalin, Paraffin, Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 56mal

Papillen mit ihren tiefen Verzweigungen werden verengt, indem sich Epithelzapfen in diesem Raum vordrängen. Dabei bleiben die schmalen Papillenspitzen erhalten, so daß sich ein Hauptstamm der Papille von 20–30 μ im Durchmesser mit zahlreichen, unverzweigten Abzweigungen von 5–10 μ im Durchmesser ergibt. In diesen Papillen ist gerade ein ausreichend breiter Raum für die Blutgefäße vorhanden. Hier treten auch lockere Plasmazellinfiltrate auf.

Die äußeren Zellschichten zeigen nach 40 und 90 Std eine Ablösung vom Epithelverband in Gruppen von mehreren Zellen (Abb. 7). Man bemerkt im Lichtmikroskop verschiedene Alterationen dieser Zellen, die wahrscheinlich durch Druckeinwirkungen des Futters in dem gefüllten Kropf entstehen. An den nicht sekretorisch tätigen Teilen des Kropfes ist eine Proliferation des Epithels nicht beobachtet worden. Es sind aber auch hier in einigen Zellen Fetteinlagerungen zu finden.

b) Elektronenoptische Befunde

Frühveränderungen nach Prolactingaben

Die ersten Veränderungen der *Mitochondrien* sehen wir vor allem in den Zellen des Stratum basale. Nach zweieinhalb bis fünf Stunden finden wir Mitochondrien, die eine tiefgrau getönte Matrix besitzen (Abb. 8a). Nach zwanzig Stunden sind die Mitochondrien größer als vor der Injektion von Prolactin, wobei ihre Matrix aufgehellte ist (Abb. 8b).

Am *Nucleus* der tiefen Epithel-Zellagen zeigt sich eine Vermehrung der osmiophilen Karyosomen. Dabei findet eine Verbreiterung des von Karyosomen gebildeten Randsaumes der Kernmembran statt. Auch nehmen Verdichtungen im Kernzentrum zu.

Die Nucleolen zeigen sich regelmäßiger und werden im elektronenoptischen Bild etwa bei der Hälfte der Zellen angetroffen. Die Nucleoli haben eine Größe von 1500 m μ und sind elliptisch, rund oder birnenförmig.

In den Nucleolen treten außerdem häufig sogenannte Innenkörper in Erscheinung. Es handelt sich dabei um runde Aufhellungen von 500 m μ im Durchmesser, welche im Nucleolus exzentrisch liegen. Bei starken Vergrößerungen konnte beobachtet werden, daß Innenkörper und Karyoplasma gleichartige Strukturmerkmale aufweisen. Kommunikationen mit dem Karyoplasma sind bei manchen Nucleolusinnenkörpern vorhanden.

Auf die Ausschleusung von Karyosomen durch die Kernmembranen können wir aus Bildern von randständigen Karyosomenvermehrungen sowie durch Anhäufungen außerhalb des Kernes in der Nähe aufgelockerter Kernmembranen schließen.

Die Zahl der *Ribosomen* nimmt etwa nach zehn Stunden in den Zellen des Stratum basale und spinosum stark zu. In den Kropfepithelzellen unbehandelter Tauben treten die Ribosomen fast ausschließlich in Basalzellen und zwar einzeln verstreut auf. Jetzt sind die Ribosomen gruppenweise angehäuft, wodurch in den Zellen des Stratum spinosum eine Verdrängung des Maschenwerkes der Tonofibrillen bewirkt wird. Die Ribosomen nehmen durch ihre nestartige Einlagerung in diesen Zellen einen beträchtlichen Teil des Cytoplasmas in Anspruch.

Das Ergastoplasma ist auch an den frühen Veränderungen beteiligt. Besonders in der Nähe der Mitochondrien werden Ergastoplasmaspalten vermehrt angetroffen. Kommunikationen von Ergastoplasmaräumen mit den perinucleären Cisternen werden gelegentlich beobachtet.

Die Fettbildung

Die Fettbildung setzt zwischen 10 und 20 Std nach der Prolactininjektion ein. Direkte Beziehung des Chondrioms und der Ribosomen zu den Fett-

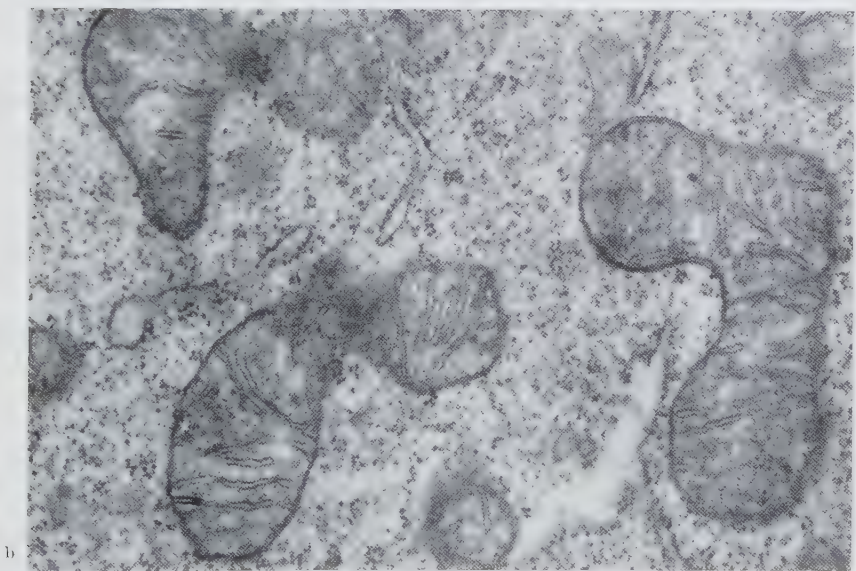
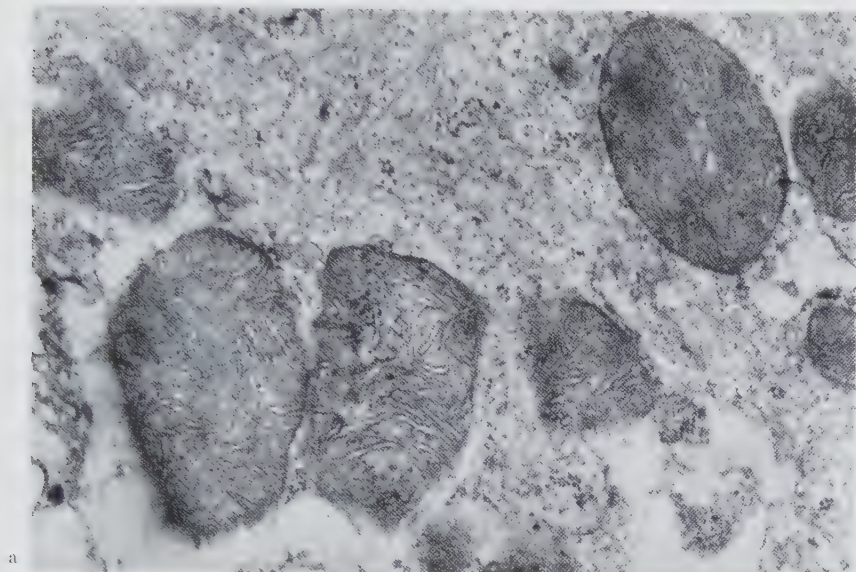


Abb. 8 a, u. b. a) Mitochondrien einer Basalzelle 2½ Std nach Prolactinbehandlung. Leicht verdichtete, dunklere Matrix. b) Mitochondrien einer Basalzelle 20 Std nach Prolactinbehandlung. Schwellung und Aufhellung der Matrix. In der Umgegend die zahlreichen, Granula-förmigen Ribosomen. Vergr. 45000 mal

einschließen, die sich in der Nähe des spärlichen Ergastoplasmas bilden, ist augenscheinlich. In umschriebenen Bezirken zwischen den Tonofibrillennetzen

der Zellen des Stratum spinosum sind Anhäufungen von Ribosomen sowie Mitochondrien und osmiophile Kügelchen an den Ergastoplasmaspalten zu sehen.

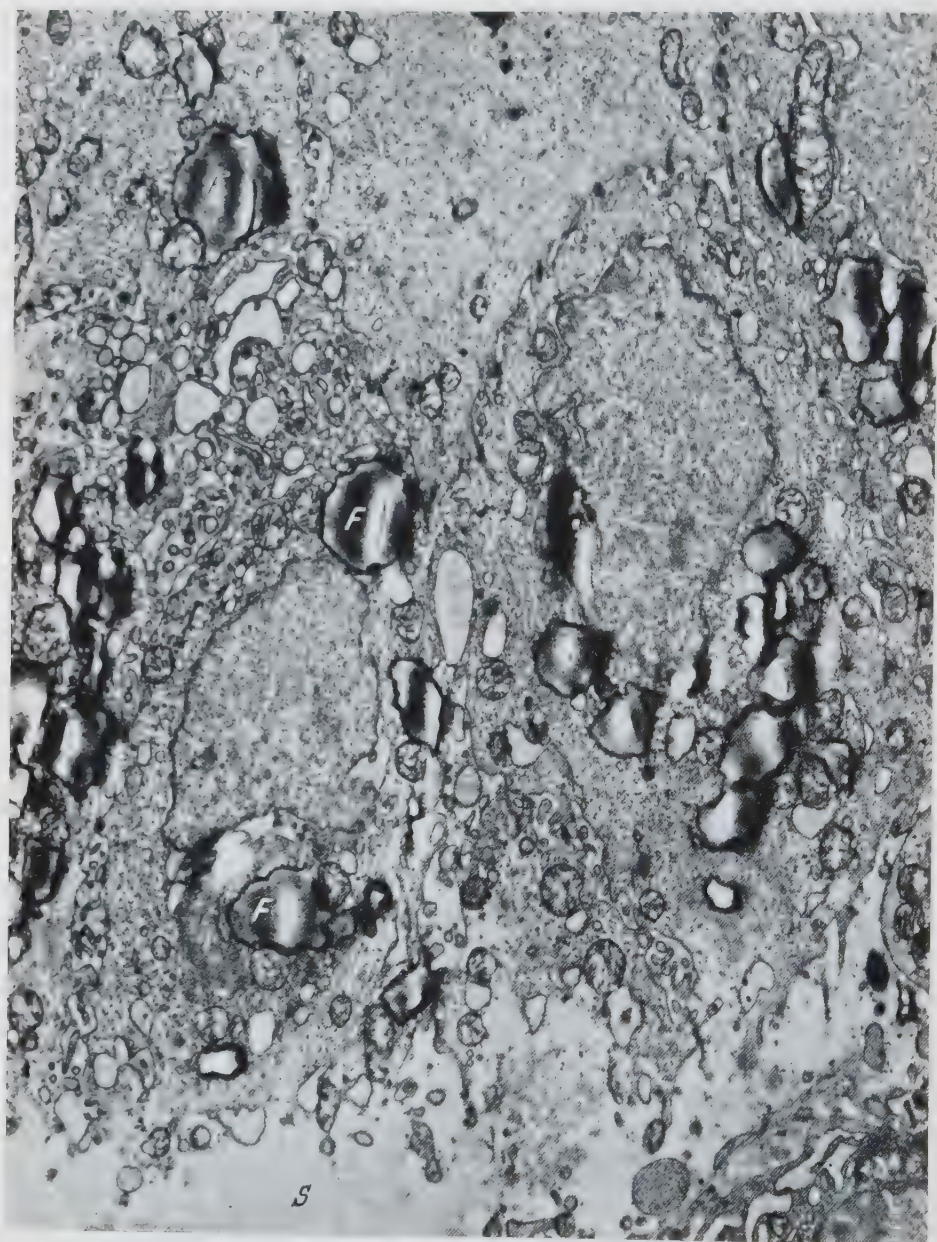


Abb. 9. Übersichtsbild aus der Basalregion 42 Std nach Behandlung mit Prolactin. Alle Zellen enthalten Fetttropfen (F). Auflockerung der Zellgrenzen besonders in den basalen Schichten sichtbar. Submucosa (S). Vergr. 7500mal.

Die Fettbildung besteht im Anfang in der Ablagerung von stark osmiophilen Substanzen im Hyaloplasma, welche als Fett angesehen werden. Dabei liegen

zu Beginn der Fettsynthese stets Mitochondrien in unmittelbarer Nähe der homogenen Zelleinschlüsse. Im örtlichen Zusammenhang mit den Mitochondrien sind dort die Ribosomen und das Ergastoplasma konzentriert. Nachdem die Fetttröpfchen etwa $500\text{ m}\mu$ Größe erreicht haben, besitzen sie eine fast runde Form.

Die Mitochondrien erreichen während der Fettbildung fast die doppelte Größe von etwa $600 \times 1000\text{ m}\mu$, indem sich ihre Matrix aufhellt und die Cristae mitochondriales auseinanderweichen (Abb. 8b).

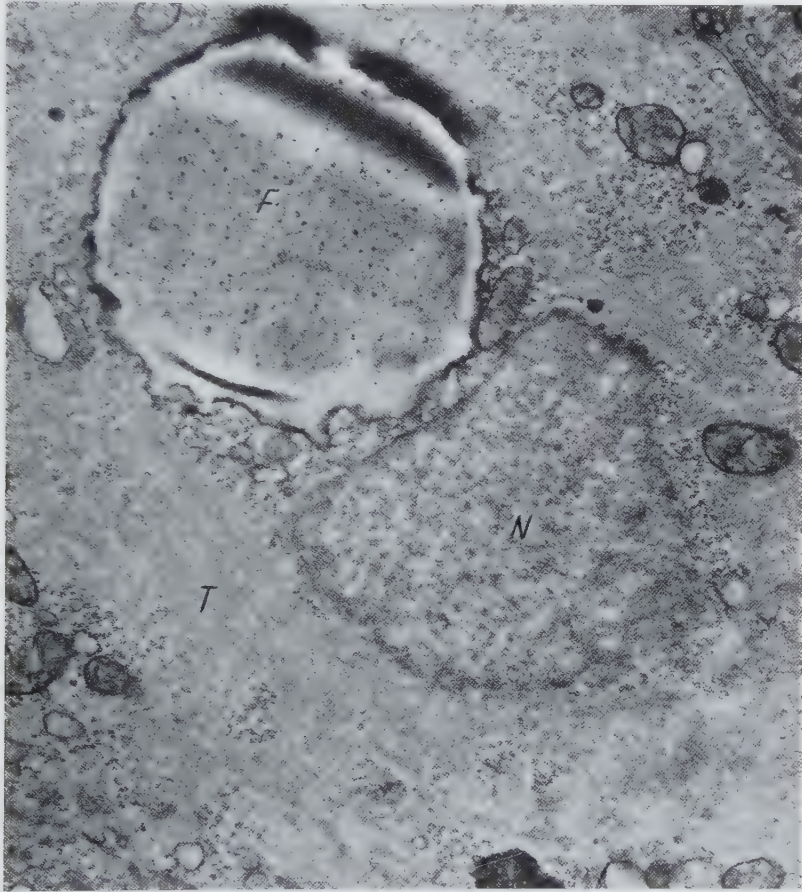


Abb. 10. Zelle mit großem Fettropfen (*F*), der den Zellkern (*N*) und die Tonofibrillen verdrängt. Ribosomenanhäufung um den Fettropfen. 90 Std nach Prolactingaben. Vergr. 21000mal

Nach etwa 20 Std ist das gesamte Zellbild in der Übersicht durch die Einlagerung zahlreicher Fettkügelchen in sämtlichen basalen und mittleren Zellen des Epithels ausgezeichnet (Abb. 9). Die Fetteinschlüsse messen zwischen ein bis drei μ im Durchmesser. Die einzelne Epithelzelle enthält in ihrem vergrößerten Zelleib bis zehn solcher Fettkügelchen.

Zwanzig Stunden nach der Prolactininjektion vergrößern sich diese Fettkügelchen weiter, jedoch nehmen sie zahlenmäßig ab. Es werden in manchen Zellen Fetteinschlüsse beobachtet, die miteinander verschmelzen (Abb. 9). Die

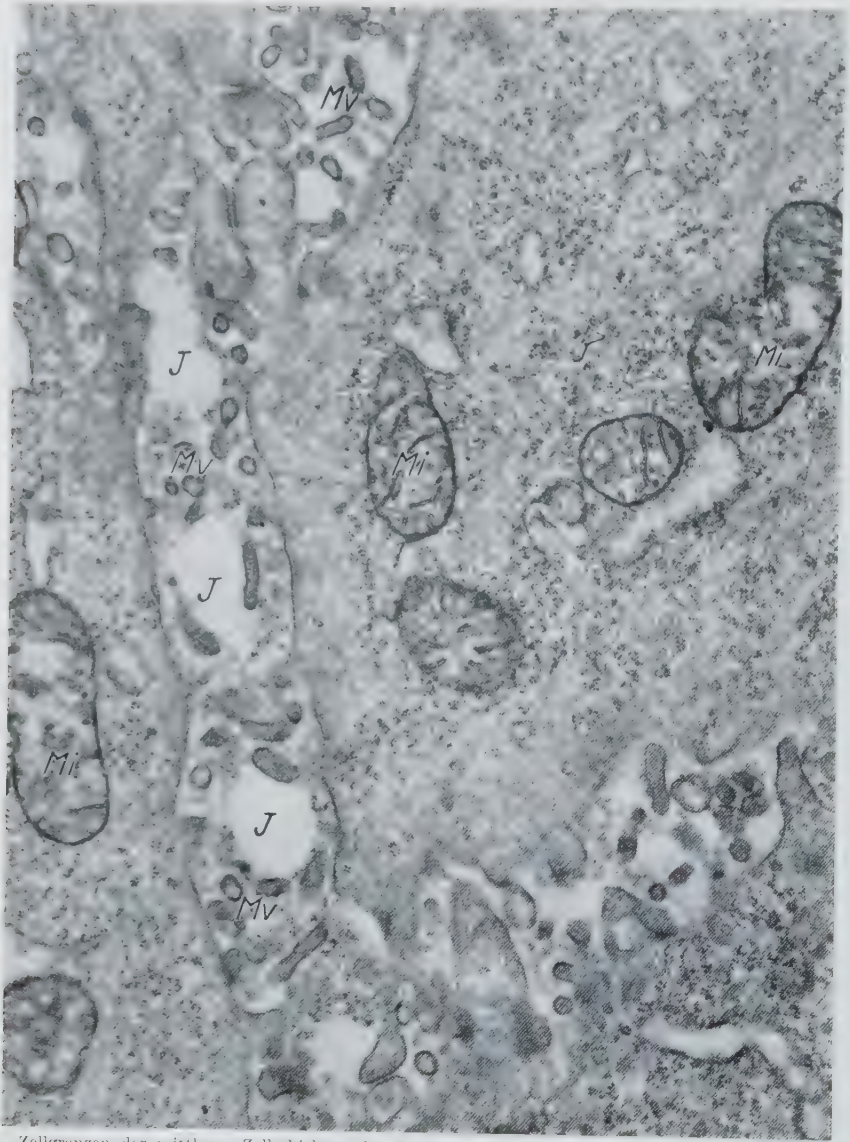


Abb. 11. Zellgrenzen der mittleren Zellschichten des Taubenkropfepithels kurz vor der Sekretion. Abgeschnürte Mikrovilli (*Mv*) im intercellulären Spaltraum (*I*). Man beachte auch die starke Mitochondrienschwellung (*Mi*). Stadium 42 Std nach Prolactinbehandlung. Vergr. 30000mal

Vergrößerung der Fetteinschlüsse scheint von diesem Zeitpunkt an vorwiegend durch Konfluieren kleinerer Fettkügelchen bewirkt zu werden. Um die größeren Fetttröpfchen findet man immer noch zahlreiche Mitochondrien und Ribosomen, woraus wir schließen können, daß eine Fettsynthese auch an diesen

großen Einschlüssen stattfindet und ein appositionelles Wachstum vorhanden ist (Abb. 10). Die Zellkerne können von den großen Fetttröpfchen eingedellt werden. Nach 42 Std hat das Epithel den Zustand der maximalen Verfettung erreicht (Abb. 9).

Die Sekretabgabe

Die Abgabe des Sekretes und eine damit verbundene Auflockerung des Epithels unterscheidet sich grundsätzlich von dem Vorgang der Desquamation am ruhenden Kropfepithel (Abb. 5). Die Ablösung der Zellen des Kropfepithels bei prolactinbehandelten Tauben geht bei der Abstoßung des Sekretes nicht mit einer Cytolyse einher. Die Zellen trennen sich bei der Kropfmilchbildung an ihren natürlichen *Zellgrenzen* (Abb. 11 u. 12). Die Auflockerung der Inter-cellularspalten als einleitender Prozeß der Sekretion findet im gesamten

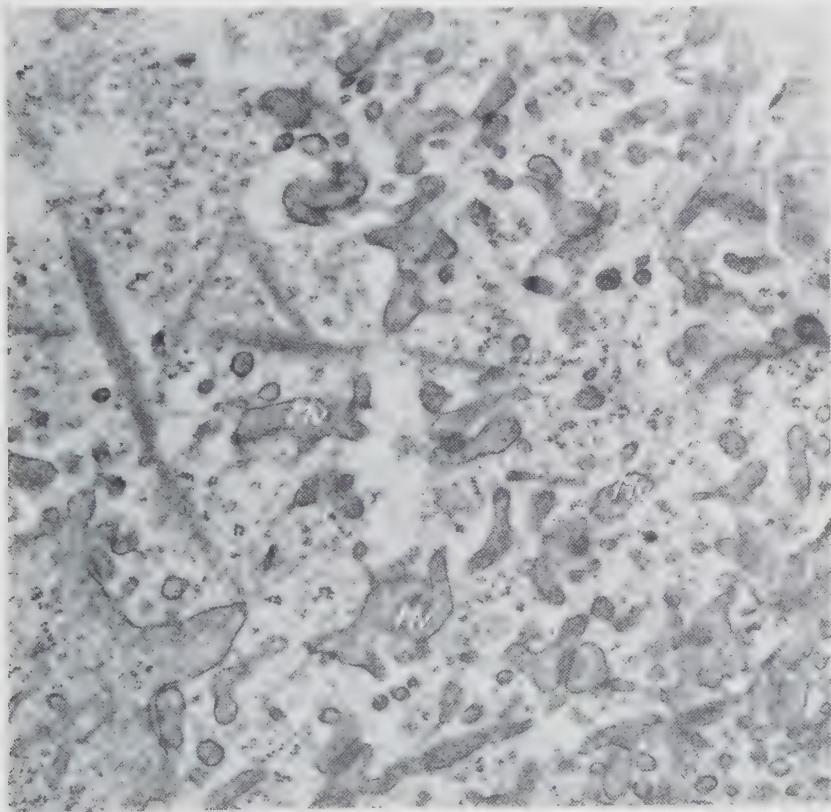


Abb. 12. Erweiterter Intercellarraum mit fragmentierten Mikrovilli (*Mv*) im sezernierenden Drüsenepithel 90 Std nach Prolactinbehandlung. Vergr. 30000mal

Epithel schon 20 Std nach der ersten Behandlung mit 25 iE Prolactin statt. Sie betrifft alle Zellschichten in vergleichbarer Form und weist auf die Entwicklung eines intercellulären Ödems hin, das differente Grade der Ausprägung zeigt.

Die Mikrovilli haben während der Umwandlungen an den Basalzellen eine uneinheitliche Form erhalten. Sie liegen dicht und haben eine unregelmäßige Dicke und Länge. An einigen Stellen schnüren sie sich von der Zelle ab.

In den mittleren und äußeren Zellen fällt ebenfalls eine starke Veränderung der Zellgrenzstrukturen auf. Desmosomen sind in beiden Zellagen ganz selten geworden, manchmal sind es nur Membranverdickungen, die an Desmosomen denken lassen. In den Zellen des Stratum spinosum liegt, wie es bei den Basalzellen gesehen wurde, die gleiche Unregelmäßigkeit an den Mikrovilli vor. Nach 90 Std und nach zwei Prolactingaben wird deutlich, daß sie sich häufig von ihrer Zelle getrennt haben und frei in den weiten Interzellularräumen liegen. Dort bilden sie kleine abgeschnürte Cytoplasmareste von Kugel- oder Stabform (Abb. 12).

In den oberflächlichen Zellen besteht eine gleichartige Ablösungstendenz, nachdem die äußersten bei der Prolactinstimulierung nicht reagierenden Zellen mit der ersten abgestoßenen Sekretschicht entfernt sind. Die Sekretabgabe vollzieht sich somit durch eine Ablösung der Zellen voneinander, nachdem die Interzellularbrücken abgebaut sind.

Das holokrine Sekret ist, wie LITWER (1926) in seiner lichtmikroskopischen Untersuchung festgestellt hat, stark mit Bakterien vermischt. Der Autor vermutet, daß eine Zersetzung des Sekretes durch diese Bakterien stattfindet.

D. Diskussion

Die sogenannte Kropfmilchdrüse der Taube stellt eine umschriebene Epithelhyperplasie in der paarig angelegten, sackförmigen Ektasie der Pars cervicalis des Oesophagus dar. Dieses Plattenepithelpolster unterliegt hormonalen Einflüssen, die physiologischerweise während der Brutpflege wirksam werden, aber auch experimentell durch lokale Injektionen von Prolactin induziert werden können. In jedem Fall reagiert das Epithel mit Bildung großer Fettmengen und Abgabe eines käsiges Sekretes, der Kropfmilch.

Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen zur Struktur und Funktion dieser „Speicheldrüse“ (LITWER 1926, WEBER 1962), sind durch elektronenoptische Studien geprüft und ergänzt worden, wobei zwei grundsätzlich verschiedene Vorgänge bei der Desquamation des Epithels zu unterscheiden waren:

1. Die Abschilferung oberflächlicher Zellschichten des Epithelpolsters im Taubenkropf *ohne hormonale Stimulation* erfolgt nach Ausbildung eines Spaltes im Cytoplasma der Epithelzellen. Der Leib der Epithelzellen reißt gewöhnlich parallel zur Oberfläche des Kropfepithels ein (Abb. 5). Dieser Vorgang ist von der Ausbildung breiter Dehiscenzen mit Zerstörung der Organellen gefolgt. Die ineinander verzahnten Zellverbindungen, die Desmosomen, widerstehen am längsten dieser Auflösung und werden schließlich auch in das Lumen des Kropfes abgestoßen.

2. In der *hormonal stimulierten Kropfmilchdrüse* der Taube geht der Epitheldesquamation die Bildung eines fettreichen Sekretes voraus. Die Epithelzellen sind damit Träger ihres eigenen Produktes, das heißt ihres Sekretes.

geworden und werden an ihren *natürlichen Zellgrenzen* abgelöst und vom Zellverband abgestoßen. Die Epithelzelle bleibt zunächst intakt und geht erst in der Kropflichtung unter Freigabe ihres Fettes zugrunde. Es liegt somit ein holokriner Sekretionsmodus vor, dessen Kriterien der von BARGMANN, FLEISCHHAUER und KNOOP (1961) gegebenen Definition entsprechen: „Das Sekret der holokrinen Zellen verläßt die Drüse zusammen mit der Bildungszelle, deren Tod eine Begleiterscheinung ist.“

Ein anderer Modus der holokrinen Sekretion durch Zelluntergang (WATZKA 1957) liegt offenbar bei der Bildung des Sekretes der Bürzeldrüse von *Anas boschas* vor, worüber durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von HOFMANN, MERKER und SCHWARZ (1960) berichtet wurde. Das in den Zellen der oberflächlichen Schichten entstehende Sekret verläßt den gleichzeitig in Cytolyse übergehenden Zellkörper. Auch RUTISHAUSER und ROSNER (1963) benützen die Bezeichnung Holokrinie für Vorgänge, die mit Protoplasmaauflösung und Zelltod einhergehen.

Die vorgewiesenen Beobachtungen haben den Nachweis erbringen können, daß es sich in den verschiedenen Zellagen morphologisch stets um einen gleichartigen Vorgang bei der Fettbildung handelt. Die experimentelle Stimulierung der Sekretion bietet in dem Falle der Taubenkropfdrüse ein Muster für die Zubereitung eines Sekretes, die alle Zellen der Drüse zur gleichen Zeit erfaßt. Das heißt, daß alle Zellen des Stratum basale und spinosum zur Fettbildung befähigt sind. Lediglich die oberflächlichsten Zellschichten sind nicht in der Lage, Fett zu produzieren. Sie werden mit der ersten Sekretabgabe abgestoßen. Danach besitzen alle Zellen Fetteinschlüsse. Die Beobachtung WEBERs (1962), daß in den Zellen der ersten Keimschicht kein Fett gebildet wird, kann nicht bestätigt werden. Auch die elektronenoptischen Befunde an Basalzellen (Abb. 9) zeigen deutlich, daß diese Zellen keine Ausnahme bei dem Vorgang der Fettsynthese machen. Daraus geht hervor, daß die Zellen dieses holokrin reagierenden Epithels außer der Sekreterzeugung die Funktion des Trägermechanismus für die Sekretabgabe erfüllen.

Das sinnfällige Phänomen der Prolactinwirkung auf den Taubenkropf ist die Fettbildung in den Epithelzellen, der eine Vermehrung und Differenzierung der Zellorganellen vorangeht. Die Teilbefunde entsprechen in morphologischer Sicht auch Reaktionen an den hormonal stimulierten Epithelzellen der Milchdrüse, die zusammenfassend von DABELOW (1959) dargestellt worden sind. Unter experimentellen Bedingungen zeigt das Cytoplasma der Drüsenzellen der Mamma nach Oestrogen- und Progesteron-Injektionen eine Verdichtung von Karyosomen des Zellkernes, Anhäufung freier Ribosomen im Cytoplasma und die Entwicklung großer Mitochondrien mit granulären Einschlüssen (BÄSSLER und FORSSMANN 1964). Wie in den Epithelzellen des Taubenkropfes entwickeln sich im Cytoplasma in unmittelbarer Umgebung dieser Organellen Fetttropfen, die schließlich die gesamte Zelle in tropfiger Form ausfüllen und konfluieren können. Die Fettsynthese in sekretbildenden Zellen kann damit die Antwort auf verschiedene Hormone darstellen. Während in den Epithelzellen der experimentell hormonal stimulierten Milchdrüse nur verhältnismäßig wenige Fetttropfen in die Drüsenlichtung gelangen, ist die Zelldesquamation

und die Umwandlung der Epithelzellen in Sekret des Taubenkropfes ein gesetzmäßig ablaufender Vorgang.

Wie in der Milchdrüse, so scheint auch im Taubenkropf der Golgi-Apparat für den *Abgabemechanismus* des *Fettes keine* Bedeutung zu haben. In den schlauch- oder cysternenartigen Hohlräumen des Golgifeldes werden die fein granulären Caseingranula bei der Milcheiweißsynthese beobachtet, deren Menge und Größe durch Stimulierung oder Hemmung der Milcheiweißbildung beeinflusst werden kann (GRILLMAIER und BÄSSLER 1963). Die MilCHFett-Tropfen treten in den Drüsenzellen der laktierenden Mamma mit dem Golgi-Apparat weder morphologisch noch funktionell in Beziehung (BARGMANN und KNOOP 1959, WELLINGS, DEOME und PITEKKA 1960). Sehr ähnliche Verhältnisse liegen auch in den Zellen des Taubenkropfepithels vor, das nur einige agranuläre Tubuli und Vesikel enthält, die dem Golgifeld entsprechen könnten. Aber auch hier findet weder eine Stoffspeicherung oder -abgabe während der Kropfmilchbildung statt. Der lichtmikroskopisch sehr beachtete Golgi-Apparat in den Epithelzellen des Kropfes, von dem LITWER (1926) glaubte, daß er maßgeblich an den Sekretionsprozessen eingreife, wird somit im Elektronenmikroskop als unbeteiligt neben den aktiven Strukturkomplexen von Zellorganellen gesehen.

Bei dem Vergleich der histologischen Abbildungen des Golgi-Apparates von LITWER mit den elektronenoptischen Befunden scheint es naheliegend, daß auch andere Zellstrukturen, vor allem das endoplasmatische Reticulum, bei der Imprägnation mit erfaßt werden. Möglicherweise lassen sich auch bei der lichtmikroskopischen Untersuchung die verzweigten, extracellulären Räume nicht von Golgi-Apparat-Strukturen unterscheiden. So könnte man sich den weiträumigen Golgi-Apparat in LITWERS Abbildungen erklären.

Die topochemischen Vorgänge bei der Fettbildung sind nach den bisherigen biochemischen Forschungsergebnissen über die Fettsynthese (LANG 1954) einleuchtend. Am Aufbau sowie am Abbau von Fetten wird die Beteiligung von oxydativen Fermenten, die im Citronensäurecyclus und in Umkehrreaktionen der β -Oxydation nach KNOOP mitwirken, verlangt. Daß die Mitochondrien Träger eines Fermentkomplexes sind, der bei der Fettsäureoxydation eingreift, haben KENNEDY und LEHNINGER (1949) sowie LANG (1952) nachgewiesen. Während uns so die enge Lagebeziehung der Mitochondrien zu dem Bildungs-ort der Fettsekrete in ihrer Bedeutung erklärbar erscheint, bleibt die Diskussion über die Beteiligung der Kernsubstanzen, die fragliche Ausschleusung von Kernmaterial, die WEBER (1962) seinen lichtmikroskopischen Befunden anschließt, für die elektronenoptischen Untersuchungen bisher noch ungelöst. Auch die Beteiligung der Ribosomen kann vorerst nicht näher definiert werden.

In den Epithelien des Taubenkropfes konnten wir jedoch weder lichtmikroskopisch noch elektronenoptisch Glykogeneinlagerungen in den fettbildenden Zellen vor oder während dem Auftreten von Fetteinschlüssen nachweisen. Glykogen scheint in dem diskutierten Beispiel der intracellulären Fettbildung keine Bedeutung zu haben. Dieser Prozeß unterscheidet sich damit auch von der Fettsynthese im braunen Fettgewebe der Ratte.

Die von GIESEKING (1961) zu dieser Frage durchgeführten Untersuchungen zeigten, daß nach Hungerperioden im braunen Fettgewebe vor der Fettsynthese massive Glykogenablagerungen auftreten und die Fettbildung solange anhält, als die Zelle über Glykogenvorräte verfügt.

Zusammenfassung

1. Zur Frage der hormonal induzierbaren Zell- und Organellenveränderungen wurde als leicht überschaubares Modell die Kropfmilchdrüse von Brieftauben licht- und elektronenoptisch untersucht. — Neben 4 unbehandelten Kontrolltieren wurden 7 Taubenkröpfe nach Prolactin-Injektionen von 25 iE pro dosi, subcutan in die Kropfgegend, untersucht. Die Gewebsentnahme erfolgte nach 2½, nach 5, 10, 20, 42 und 90 Std.

2. Unter dem Einfluß von Prolactin treten bereits nach zwei bis fünf Stunden Zellveränderungen auf. Es entwickeln sich zahlreiche Ribosomen und Mitochondrien im Cytoplasma, in deren unmittelbarer Nähe Fetttropfen entstehen. Durch Konfluenz kleiner Tropfen vergrößern sich diese Einschlüsse. Nach zwanzig Stunden ist die Fettbildung in allen Epithelschichten des Taubenkropfes erkennbar. Die oberflächlichen Epithelzellen lösen sich an ihren natürlichen Verbindungen ab und gelangen in das Kropflumen. Es liegt ein holokriner Sekretionsmodus vor.

3. Der physiologischen Desquamation der oberflächlichen Epithelschicht in der unbehandelten Kropfmilchdrüse geht eine Zerstörung des Zelleibes durch Spaltbildung voraus. Die Zellgrenzen mit ihren Desmosomen widerstehen zunächst diesen Auflösungsvorgängen der Organellen und des gesamten Zellplasmas und werden erst danach abgestoßen.

Literatur

- AFZELIUS, B. A.: The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with the electron microscope. *Exp. Cell. Res.* **8**, 147—158 (1955).
- BÄSSLER, R., u. W. G. FORSSMANN: Experimenteller Strukturwandel der Drüsenzelle durch Hormonwirkung. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **48**, 240—245 (1964).
- BARGMANN, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Neurohypophyse. In: 2. Internat. Symposium über Neurosekretion, Lund 1957. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.
- u. A. KNOOP: Über die Morphologie der Milchsekretion. *Z. Zellforsch.* **49**, 344—388 (1959).
- K. FLEISCHHAUER u. A. KNOOP: Über die Morphologie der Milchsekretion. II. Zugleich eine Kritik am Schema der Sekretionsmorphologie. *Z. Zellforsch.* **53**, 545—568 (1961).
- BEAMS, H. W., V. L. VAN BREEMEN, D. M. NEWFANG, and P. C. EVANS: A correlated study on spinal ganglion cells and associated nerve fibers with the light and electron microscopes. *J. comp. Neurol.* **96**, 249—281 (1952).
- BERNHARD, W., et E. DE HARVEN: L'ultrastructure du centriole et d'autres éléments de l'appareil achromatique. Fourth Internat. Conference on Electron Microscopy, Berlin 1958, pp. 217—227. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- BRETTSCHNEIDER, L. H.: The electron microscope investigation of tissue sections. *Int. Rev. Cytol.* **1**, 305—322 (1952).
- CALLAN, H. G., and S. G. TOMLIN: Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. *Proc. roy. Soc. B* **137**, 367—378 (1950).
- CHARBONNEL-SALLE et PHISALIX: Sur la sécrétion lactée du jabot des pigeons en incubation. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **103**, 286—288 (1886).

- DABELOW, A.: Die Milchdrüse. XVI/S: Die Steuerung der Lactation. In: MÖLLENDORFF-BARGMANN, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. 3. Teil Erg. z. Bd. III/1. S. 446—461. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
- DALTON, A. J., and M. D. FELIX: A comparative study of the Golgi complex. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 79—84 (1956).
- HARVEN, E. DE, et W. BERNHARD: Etude au microscope électronique de l'ultrastructure du centriole chez les vertébrés. *Z. Zellforsch.* **45**, 378—398 (1956).
- FORSSMANN, W. G.: Studien über den Feinbau des Ganglion cervicale superius der Ratte. I. Normale Struktur. *Acta anat. (Basel)* **59**, 106—140 (1964).
- GIESEKING, R.: Der Stoffwechsel des braunen Fettgewebes im elektronenoptischen Bild. *Beitr. path. Anat.* **125**, 457—475 (1961).
- GRILLMAIER, H., u. R. A. BÄSSLER: Die Wirkung parenteraler Methionin- und Äthioningaben auf die Lactation der Ratte. Biometrische, chromatographische, licht- und elektronenoptische Studien. *Z. exp. Med.* **137**, 299 (1963).
- HAGUENAU, F., et W. BERNHARD: L'appareil de Golgi dans les cellules normales et cancéreuses de vertébrés. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.* **44**, 27—55 (1955).
- Particularités structurales de la membrane nucléaire. *Bull. du Cancer* **42**, 537—544 (1955).
- HASSE, C.: Über den Oesophagus der Tauben und das Verhältnis der Secretion des Kropfes zur Milchsecretion. *Z. ration. Med.* **23**, 101—132 (1865).
- HOFFMANN, M., H. J. MERKER u. W. SCHWARZ: Fett als Sekret. Untersuchungen an der Bürzeldrüse der Ente (*Anas boschas*). *Z. Zellforsch.* **52**, 248—255 (1960).
- HUNTER, J.: Observations on certain parts of the animal oeconomy. S. 191—198: On a secretion in the crop of breeding pigeons, for the nourishment of their young. London: Leicester-square 1786.
- HUXLEY, H. E., and G. ZUBAY: Preferential staining of nucleic acid-containing structures for electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 273—296 (1961).
- JUNKMANN, K.: Die physiologische Chemie der inneren Sekretion. In: FLASCHENTRÄGER-LEHNARTZ, Handbuch der physiologischen Chemie. Bd. II. Der Stoffwechsel. 2. Teil/Bandteil 6. S. 485—488. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
- KARNOVSKY, M. J.: Simple methods for "staining with lead" at high pH in electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 729—732 (1961).
- KENNEDY, E. P., and A. L. LEHNINGER: Oxidation of fatty acids and tricarboxylic acid cycle intermediates by isolated rat liver mitochondria. *J. biol. Chem.* **179**, 957—972 (1949).
- LANG, K.: Lokalisation der Fermente und Stoffwechselprozesse in den einzelnen Zellbestandteilen und deren Trennung. In: 2. Kolloquium Dtsch. Ges. Phys. Chemie, S. 24—47. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1952.
- Stoffwechsel der Fette. In: FLASCHENTRÄGER-LEHNARTZ, Handbuch der physiologischen Chemie. Bd. II. Der Stoffwechsel. 1. Teil/Bdteil a. S. 792—840. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- LEYDIG, F.: Lehrbuch der Histologie des Menschen und der Thiere. Frankfurt: Meidinger 1857.
- LITWER, G.: Die histologischen Veränderungen der Kropfwandung bei Tauben, zur Zeit der Bebrütung und Ausfütterung ihrer Jungen. *Z. Zellforsch.* **3**, 695—722 (1926).
- NEERGAARD, J. W.: Vergleichende Anatomie und Physiologie der Verdauungswerkzeuge der Säugethiere und Vögel. Berlin: Realschulbuchhandlung 1806.
- PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* **95**, 285—298 (1952).
- The fine structure of mitochondria. *Anat. Rec.* **114**, 427—452 (1952).
- A small particulate component of the cytoplasm. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 59—68 (1955).
- The endoplasmatic reticulum. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** (Suppl.), 85—97 (1956).
- PALAY, S. L.: The morphology of secretion. In: *Frontiers in Cytology*, edit. by S. L. PALAY. S. 305—342. New Haven: Yale University Press 1958.
- , and G. E. PALADE: The fine structure of neurons. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 69—88 (1955).
- PEYER, J. C.: *Merycologia sive de ruminantibus et ruminatione commentarius*. Basiliae: 1685.
- PORTER, K. R.: Electron microscopy of basophilic components of cytoplasm. *J. Histochem. Cytochem.* **2**, 346—375 (1954).
- The ground substance, observation from electron microscopy. In: *The Cell*, edit. by J. BRACHET and A. E. MIRSKY, Vol. II, pp. 621—675. New York and London: Acad. Press 1961.

- RANVIER, L.: Le mécanisme de la sécrétion. *J. Micrograph.* **11**, 7—15, 62—70, 357—364 (1887).
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208—212 (1963).
- RIDDLE, O., and P. F. BRAUCHER: Studies on the physiology of reproduction in birds. XXX. Control of the special secretion of the crop-gland in pigeons by an anterior pituitary hormone. *Amer. J. Physiol.* **97**, 617—625 (1931).
- R. W. BATES, and S. W. DYKSHORN: The preparation, identification and assay of prolactin — a hormone of the anterior pituitary. *Amer. J. Physiol.* **105**, 191—216 (1933).
- RUTISHAUSER, E., u. P. ROSNER: Über die Einwanderung der Zellen der Nebennierenrinde ins umliegende Fettgewebe (sog. cortico-adrenale Holokrinie). *Virchows Arch. path. Anat.* **337**, 175—182 (1963).
- RYTER, A., et E. KELLENBERGER: L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie. *J. Ultrastruct. Res.* **2**, 200—214 (1958).
- STOCKENIUS, W.: Golgi-Apparat und Centriol menschlicher Plasmazellen. *Frankfurt. Z. Path.* **68**, 404—409 (1957).
- STRICKER, P., et F. GRUETER: Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **99**, 1978—1980 (1928).
- TEICHMANN, M.: Der Kropf der Taube. *Arch. mikr. Anat.* **34**, 235—247 (1889).
- VOGEL, A.: Zelloberfläche und Zellverbindungen im elektronenmikroskopischen Bild. *Verh. der Deutschen Gesellschaft für Pathologie*, 41. Tagung, 1957, S. 285—295. Stuttgart: Fischer 1958.
- Zellgrenzstrukturen im elektronenmikroskopischen Bild. *Ther. Ber.* **3**, 67—71 (1959).
- WAGNER, R.: *Lehrbuch der Zootomie*. 1843.
- WATSON, M. L.: The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 257—270 (1955).
- WATZKA, M.: *Kurzlehrbuch der Histologie und mikroskopischen Anatomie*. Stuttgart: Schattauer 1957.
- WEBER, W.: Zur Histologie und Cytologie der Kropfmilchbildung der Taube. *Z. Zellforsch.* **56**, 247—276 (1962).
- WELLINGS, S. R., K. B. DEOME, and D. R. PITEKKA: Electron Microscopy of Milk Secretion in the Mammary Gland of the C3H/Crgl. Mouse. I. Cytomorphology of the prelactating and the lactating gland. *J. nat. Cancer Inst.* **25**, 393 (1960).

WOLF G. FORSSMANN
Institut d'Histologie et d'Embryologie
Ecole de Médecine
Genève/Schweiz

Druck: Brühlsche Universitätsdruckerei Gießen

Lebenslauf

Ich, WOLF FORSSMANN, wurde am 10. Oktober 1939, als Sohn des Dr. med. WERNER FORSSMANN und seiner Ehefrau Dr. med. ELSEBETH FORSSMANN geb. ENGEL in Berlin geboren.

Während des Krieges wurde unsere Familie nach Wambach im Schwarzwald evakuiert, von wo ich 4 Jahre zur Volksschule in Wies ging. 1950 zogen wir nach Bad Kreuznach. Dort besuchte ich das Staatliche Gymnasium und legte im Frühjahr 1959 die Reifeprüfung ab. Mein Medizinstudium begann ich in Mainz, wo ich nach dem zweiten Semester die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand. Nach drei weiteren Semestern in Köln legte ich dort im Juli 1962 die ärztliche Vorprüfung ab. Zum klinischen Studium ging ich zunächst zwei Semester nach Mainz zurück und studierte dann als Stipendiat des Deutschen Akademischen Austauschdienstes ein Jahr in Genf. Dort hatte ich Gelegenheit, im »Centre de microscopie électronique« unter Prof. CHARLES ROUILLER wissenschaftlich zu arbeiten. Im Oktober 1963 heiratete ich Fräulein cand. med. ANTJE DALDRUP aus Arnsberg in Westfalen. Ich möchte mein Studium in Mainz beenden und mich im Sommer 1964 zur ärztlichen Prüfung melden.

